

## SOUHRN

**ÚVOD:** Svalová slabost kriticky nemocných významně a dlouhodobě zhoršuje výkonnost a kvalitu života pacientů, kteří překonají závažné onemocnění nebo trauma. Protože specifická léčba dosud neexistuje, je výzkum její patogeneze velmi naléhavý. Hlavní rizikové faktory – sepsa a syndrom systémové zánětlivé reakce - jsou sdruženy s mitochondriální dysfunkcí, proto bylo cílem naší studie získat detailní informace o funkci mitochondrií lidského kosterního svalu v protražované fázi kritického onemocnění. Dále jsme studovali vliv složení experimentálního prostředí (mastné kyseliny, glutamin) na mitochondriální bioenergetiku.

**MATERIÁL a METODY:** Získali jsme vzorky kosterního svalu kriticky nemocných a kontrolní skupiny pacientů (biopsie m. vastus lateralis). Na homogenátu lidského kosterního svalu jsme pomocí vysokoúčinné respirometrie analyzovali mitochondriální respirační aktivitu, spektrofotometricky jsme měřili individuální funkční kapacitu jednotlivých komplexů dýchacího řetězce a technikou western blot jsme stanovovali koncentrace jednotlivých podjednotek dýchacího řetězce. Na kulturách lidských myoblastů a myotub jsme analyzovali mitochondriální respirační parametry pomocí extracelulárního fluxu a studovali jsme vliv složení extracelulárního prostředí na bioenergetiku.

**VÝSLEDKY:** Aerobní produkce ATP je u kriticky nemocných snížena na ~54% hodnot zjištěných v homogenátu kosterního svalu kontrolní skupiny ( $p < 0.01$ ). Současně jsme pozorovali depleci komplexů respiračního řetězce III (~38%,  $p = 0.02$ ) a IV (~26%,  $p < 0.01$ ), oproti očekávání jsme nezjistily odpražení vnitřní mitochondriální membrány. Překvapivým zjištěním je významně vyšší aktivita komplexů II a III u kriticky nemocných (3-krát ( $p < 0.01$ ) a 2-krát ( $p < 0.01$ )). In vitro experimenty na buněčných kulturách přinesly obdobné výsledky – zjistili jsme depleci funkčních mitochondrií u myotub kriticky nemocných (69% hodnot kontrolní skupiny, ( $p = 0.051$ )) a celkově vyšší kapacitu oxidovat mastné kyseliny (157% hodnot kontrolní skupiny, ( $p = 0.015$ )). Dlouhodobá expozice těchto myotub mastným kyselinám navíc signifikantně ( $p = 0.009$ ) zvyšuje maximální respirační kapacitu jejich dýchacího řetězce. Mírná hypoglutaminémie (300 $\mu$ M) je podle našich výsledků optimální pro účinnou oxidativní fosforylaci a proliferaci lidských myoblastů i myotub.

**ZÁVĚR:** Jako první jsme adaptovali a publikovali dvě nové metodiky - vysokoúčinnou respirometrii na homogenátu lidského kosterního svalu a analýzu extracelulárního fluxu lidských myotub. Toto je první studie vůbec, která prokázala mitochondriální dysfunkci kosterního svalu pacientů v protražované fázi kritického onemocnění. Snížení aerobní fosforylace o ~50% je způsobeno deplecí funkčních mitochondrií, u zbývajících mitochondrií dochází k relativnímu zvýšení kapacity oxidovat mastné kyseliny. Navíc mají myotuby kriticky nemocných po expozici masným kyselinám vyšší maximální respirační kapacitu dýchacího řetězce. Věříme, že naše výsledky přispějí k pochopení patogeneze svalové slabosti kriticky nemocných a že porozumění procesům sdruženým se změnami dostupnosti konkrétních živin může sloužit jako základ pro vývoj tolik potřebné specifické léčby ICUAW.